

ارزیابی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط برای صفات آگرومورفولوژیکی فلفل (*Capsicum spp.*) با استفاده از نشانگرهای ISSR

محسن صالحیان^۱، رضا درویش‌زاده^{۱،۲*} و محمود رضازاد باری^۳

^۱ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی

^۲ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده زیست‌فناوری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

^۳ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۳۰

چکیده

مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرها برای حفظ مؤثر ژرم‌پلاسم و درک ساختار ژنتیکی آن ضروری است. تغییرات ژنتیکی در یک گونه سازگاری آن به محیط‌های مختلف را تسهیل می‌کند. در این مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۱۴ ژنوتیپ از ۳۰ توده‌ی فلفل (*Capsicum*) با ۱۱ آغازگر ISSR و همچنین ۱۴ صفت مورفولوژیکی بررسی گردید. از ۱۶۵۳ جفت نشانگر ISSR، ۷/۰۴ درصد به طور معنی‌دار ($P \leq 0.01$) در عدم تعادل پیوستگی (LD) بودند. در تجزیه ساختار جمعیت براساس داده‌های مولکولی و با استفاده از مدل بیزین، ۵ زیرجمعیت ($K=5$) شناسایی گردید. در تجزیه ارتباط با استفاده از مدل خطی مخلوط و با لحاظ کردن ماتریس‌های Qst (ماتریس ساختار جمعیت) و K (ماتریس خویشاوندی افراد)، تعدادی از نشانگرهای تکثیر شده با ۸ آغازگر ISSR ۱۳ صفت مورد بررسی پیوستگی نشان دادند. در بررسی حاضر، نشانگرهای مشترک برای برخی صفات شناسایی گردید که حاصل اثرات پلئوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات است. نشانگرهای تکثیر شده با آغازگر UBC834 بیشترین تعداد پیوستگی را با صفات مورد بررسی نشان دادند. نشانگرهای شناسایی شده در صورت تأیید می‌توانند در توسعه ارقام فلفل مفید باشند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، شناسایی کیو.تی.ال، فلفل، عدم تعادل پیوستگی، نشانگرهای مولکولی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۱۹۴۲۷۸۵ (۴۴)۹۸+، پست الکترونیکی: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

مقدمه

محدود در ارقام زراعی آسیب‌پذیری آن‌ها در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد (۱۷). ژرم-پلاسم بومی یکی از منابع مهم برای انتخاب والدین و گسترش پایه ژنتیکی در پروژه‌های اصلاح ارقام هیبرید فلفل می‌باشد. نژادهای بومی علاوه بر سازگاری بهتر با شرایط محیطی، دارای تنوع زیاد برای صفات مورفولوژیکی مانند اندازه، شکل و رنگ میوه هستند (۳۱). این تنوع فرصت توسعه ارقام منحصراً به فرد در برنامه‌های اصلاحی را فراهم می‌نماید. نشانگرهای مولکولی در تکمیل ارزیابی-

جنس فلفل (*Capsicum L.*) به عنوان یکی از محصولات مهم کشاورزی در سراسر جهان (۳۱) از خانواده Solanaceae و شامل ۲۲ گونه وحشی و ۵ گونه اهلی (*C. annuum L.*, *C. frutescens L.*, *C. chinese Jacq.*, *C. baccatum L.*, *C. pubescens R. & P.*) است (۱۳). ارقام این گیاه دیپلوئید با عدد کروموزومی $2n=2x=24$ می‌باشند. ارقام تجاری امروزی، هیبریدهای F1 از گونه *C. annuum L.* هستند. در طول ۳۰ سال گذشته ارقام هیبرید فلفل محبوبیت فراگیر پیدا نموده‌اند. از طرفی، پایه ژنتیکی

مجموعه‌های ژرم‌پلاسم انجام می‌شود. در هر دو روش شناسایی ارتباطات بین فنوتیپ‌ها و نشانگرهای مولکولی مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی ناشی از پیوستگی مکان‌های ژنی است (۱۲). در مقایسه دو روش وضوح تجزیه ارتباطی به علت رخداد نوترکیبی‌های زیاد بالا است (۲۴). هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت و همچنین تجزیه ارتباط برای صفات مورفولوژیک در فلغل با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR می‌باشد. شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مورفولوژیک می‌تواند به اصلاح گران در پیشبرد برنامه‌های گزینش در طول برنامه‌های اصلاحی جهت معرفی ارقام با پتانسیل عملکرد بالا کمک اساسی نماید.

مواد و روشها

مواد گیاهی: تعداد ۱۱۴ ژنوتیپ متعلق به ۳۰ توده فلغل (جدول ۱) در گلدان‌های حاوی مخلوطی از خاک مزرعه و پیت‌ماس کشت و در فضای گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه چیده شدند. در طول فصل رشد بعد از هر ۲ دور آبیاری با آب معمولی، یک دور آبیاری با آب حاوی نیم گرم در لیتر کود ۲۰-۲۰-۲۰ (NPK) انجام شد و نهایتاً ۱۴ صفت مورفولوژیک در گیاهان اندازه‌گیری شدند (جدول ۲).

در مرحله ۴ برگی، نمونه برگی از هر ژنوتیپ انتخاب و پروفیل مولکولی آن‌ها با ۱۱ آغازگر ISSR تهیه گردید. دی. ان. آ (Deoxyribonucleic acid) (DNA) ژنومی ژنوتیپ‌ها با روش ستیل‌تری‌متیل‌آمونیم‌بروماید (Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)) استخراج گردید. جهت بررسی کمیت و کیفیت DNA ژنومی، به ترتیب از اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد استفاده گردید. آغازگرهای ISSR مورد استفاده شامل UBC809، UBC811، UBC812، UBC817، UBC823، UBC825، UBC826، UBC827، UBC834، UBC842 و UBC856 می‌باشند. چرخه‌های دمایی

های مورفولوژیک برای توصیف تنوع ژنتیکی موجود در مرکز تنوع و به منظور شناسایی منابع اضافی تنوع ژنتیکی برای بهبود محصول بسیار مفید هستند. نشانگرهای مولکولی DNA با توجه به تعداد زیاد آن‌ها، عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی و قابلیت تکرارپذیری برای تعیین شباهت ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها، مفید هستند (۱۹). این نشانگرها به عنوان ابزار ایده آل برای مطالعه تنوع ژنتیکی، نقشه‌یابی ژن‌ها، انتخاب لاین‌های والدینی برای تلاقی، شناسایی تنوع و خلوص هیبریدها در صنعت تولید بذر می‌باشند (۱۶ و ۲۳). در میان انواع نشانگرهای DNA توسعه یافته مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase chain reaction (PCR))، ISSR (Inter simple sequence repeat) به طور گسترده جهت مطالعه تنوع در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. نشانگر ISSR نیازمند مقدار کمی از DNA الگو است (۳۹) و برای اجرا نیاز به داشتن اطلاعات از توالی ژنوم ارگانیزم مورد مطالعه نمی‌باشد.

بسیاری از صفات مهم زراعی از قبیل کیفیت و میزان محصول‌دهی، تحمل به تنش‌های محیطی و برخی از اشکال مقاومت در برابر بیماری‌ها چندژنی (Polygenes) بوده و بشدت تحت تأثیر محیط و اثرات متقابل ژنتیک × محیط قرار می‌گیرند (۱۱ و ۳۰). یکی از اهداف عمده به-نژادگران گیاهی مطالعه ژنتیکی صفات کمی است که از طریق نقشه‌یابی مکان‌های صفات کمی (Quantitative trait loci (QTL)) (QTLs) صورت می‌گیرد (۳۴). شناسایی QTL‌های با اهمیت زراعی و استفاده از آن‌ها در بهبود محصول به نقشه‌یابی از این QTL‌ها در ژنوم گونه-های زراعی با استفاده از نشانگرهای مولکولی نیازمند است (۱۱ و ۳۰). نقشه‌یابی ژنتیکی می‌تواند عمدتاً به دو صورت انجام گیرد: ۱- تجزیه پیوستگی که با استفاده از جمعیت‌های آزمایشی یا جمعیت‌های نقشه‌یابی "دو والدی (Biparental (BP))" انجام می‌شود ۲- تجزیه ارتباطی که با استفاده از لاین‌های متنوعی از جمعیت‌های طبیعی یا

واکنش‌های PCR عبارت بود از: یک چرخه شامل (94°C) ۹۴ به مدت ۴ دقیقه برای واسرشت‌سازی اولیه DNA، ۳۶ چرخه شامل (94°C) ۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه برای واسرشت‌سازی، دمای اختصاصی برای هر یک از آغازگرها جهت اتصال آن‌ها به DNA الگو به مدت ۳۰ ثانیه و (72°C) ۷۲ به مدت ۲ دقیقه برای بسط آغازگر و در نهایت یک چرخه شامل (72°C) ۷۲ به مدت ۱۰ دقیقه برای بسط نهایی. در نهایت برای جداسازی محصولات PCR از ژل آگارز ۱/۸ درصد در بافر TBE 0.5x استفاده شد.

جدول ۱- اطلاعات توده‌های فلفل مورد مطالعه

کد	اسامی	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	بالاتر از سطح دریا (m)	میانگین سالانه آب و هوا	
					دما (°C)	سرما (روز)
۱	Sabzevar	۴۰-۵۷	۱۲-۳۶	۹۸۱/۲۱	۱۷/۱	۵۹
۲	Khorasan	۳۷-۵۹	۱۵-۳۶	۹۸۱/۹۰	۱۵/۷	۶۵
۳	Urmia	۵-۴۵	۳۲-۳۷	۱۳۴۴/۶۴	۱۰/۶	۱۲۰
۴	Tabriz	۱۶-۴۶	۵-۳۸	۱۳۶۵/۷۶	۱۱/۶	۱۰۴
۵	Tafresh (Markazi)	۰-۵۰	۴۱-۳۴	۱۸۹۲/۰۹	۱۱/۵	۶۰
۶	Mahallat (Markazi)	۲۷-۵۰	۵۴-۳۳	۱۳۷۳/۸۱	۱۳/۸	۱۲۰-۶۰
۷	Borujerd	۴۶-۴۸	۵۳-۳۳	۱۵۶۲/۰۲	۱۴/۶	۷۰
۸	Shiraz	۳۵-۵۲	۳۵-۲۹	۱۵۰۸/۱۴	۱۸	۲۹
۹	Lordegan 1 (Chaharmahal)	۴۸-۵۰	۳۰-۳۱	۱۵۷۲/۶۷	۱۶/۲	۳۰
۱۰	Boyer Ahamd	۵۰-۵۰	۴۳-۳۰	۱۱۶۵/۳۶	۱۰/۱۵	۴۵
۱۱	Lordegan 2 (Chaharmahal)	۴۸-۵۰	۳۰-۳۱	۱۵۷۲/۶۷	۱۶/۲	۳۰
۱۲	Chaharmahal	۳۹-۵۰	۵۹-۳۱	۱۸۲۹/۱۹	۱۱/۵	۸۳
۱۳	Minab (Hormozgan)	۴-۵۷	۸-۲۷	۳۵	۱۲/۵۵	۰
۱۴	Kurdistan 1	۸-۴۷	۵۷-۳۵	۲۵۳۸	۱۲/۸	۱۰۹
۱۵	Kurdistan 2	۸-۴۷	۵۷-۳۵	۲۵۳۸	۱۲/۸	۱۰۹
۱۶	Kurdistan 3	۸-۴۷	۵۷-۳۵	۲۵۳۸	۱۲/۸	۱۰۹
۱۷	Keshtiban (Urmia)	۱۵-۴۵	۳۳-۳۷	۱۲۷۸	۸/۹	۱۲۰
۱۸	Bojnord	۱۸-۴۷	۲۸-۳۷	۱۰۷۰	۲۶/۸	۱۰۵
۱۹	Gharamalik (Tabriz)	۱۳-۴۶	۵-۳۸	۱۳۴۴	۱۱/۹	۱۰۴
۲۰	Ghale Jigh (Bonab)	۵-۴۶	۹-۳۷	۱۳۰۸	۷/۲۰	۱۰۰
۲۱	Bane	۵۲-۴۵	۵۹-۳۵	۱۵۲۶/۵۲	۱۲/۲	۹۸
۲۲	Joghatay (Mashhad)	۶-۵۹	۶-۳۵	۱۱۴۶/۰۱	۱۵/۶	۶۵
۲۳	Ghachsaran	۴۷-۵۰	۲۱-۳۵	۷۲۸/۹۵	۲۲/۵	۵
۲۴	Bash Ghala-Urmia	۷-۴۵	۳۸-۳۷	۱۲۸۸/۹۸	۸/۹	۱۲۰
۲۵	Maragheh	۱۵-۴۶	۶-۳۸	۱۴۷۲/۲۹	۱۲/۵	۸۱
۲۶	Gharah Bagh (Urmia)	۲-۴۵	۳۲-۳۴	۱۳۷۶/۰۳	۸/۹	۱۲۰
۲۷	Tuyserkan (Hamadan)	۲۷-۴۸	۴۲-۳۷	۱۸۷۰/۶۵	۱۸/۱۳	۸۸
۲۸	Nakhchivan (Urmia)	۶-۴۵	۴۲-۳۷	۱۲۹۸/۵۸	۸/۹	۱۲۰
۲۹	Gejalar (Urmia)	۴-۴۵	۴۲-۳۷	۱۳۰۴	۱۲/۹	۱۵۰
۳۰	Urfa (Turkey)	۴۷-۳۸	۱۰-۳۷	۵۲۸/۰۹	۲۳/۲	۱۰۰

منبع اطلاعات: سازمان هواشناسی کشور، اداره کل فناوری اطلاعات و ارتباطات.

جدول ۲- صفات مورفولوژیکی مطالعه شده در جمعیت‌های فلفل

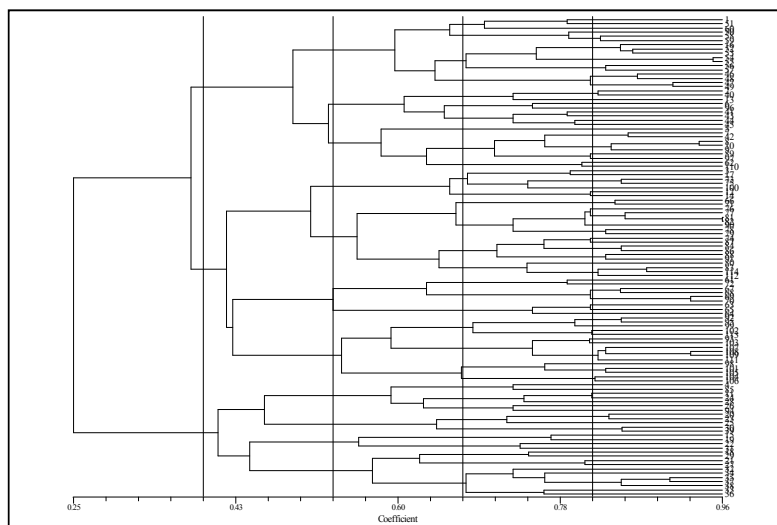
کد	صفت	کد	صفت	کد	صفت
RF	قطر میوه (cm)	RS	دور بوته (mm)	NB	تعداد شاخه
FC	دور میوه (cm)	NF	تعداد میوه	LL	طول برگ (cm)
PW	وزن گوشت (gr)	SFW	وزن تک میوه (gr)	LW	عرض برگ (cm)
TSW	وزن بذر کل (gr)	TFW	وزن کل (gr)	PL	طول دم‌برگ (cm)
		FL	طول میوه (cm)	PH	ارتفاع بوته (cm)

Carlo) ۱۰۰۰۰۰۰ برآورد شد. ماتریس Qst (برآورد ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ به هریک از زیر جمعیت‌ها) پس از تعیین مقدار K بهینه محاسبه شد. تجزیه ارتباط بین داده‌های ISSR و داده‌های فنوتیپی با لحاظ کردن ماتریس Qst (ماتریس ساختار جمعیت) و K (ماتریس خویشاوندی افراد) به عنوان کواریت در مدل خطی مخلوط (Mixed Linkage TASSEL3.0) با استفاده از نرم‌افزار (MLM=linear model) انجام شد. عدم تعادل لینکاژی (Linkage Disequilibrium) بین جفت نشانگرهای ISSR با نرم‌افزار TASSEL3.0 برآورد شد.

نتایج

از میان آغازگرهای ISSR مورد بررسی، آغازگر UBC856، بیشترین تعداد نشانگر (۱۱ عدد) و آغازگر UBC842، کمترین تعداد نشانگر (۳ عدد) را تکثیر کردند (جدول ۳). کمترین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) برای آغازگر UBC825 با ۳۳/۸ درصد و بیشترین میزان برای آغازگر UBC811 با ۴۵ درصد مشاهده شد (جدول ۳). تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نشانگرهای ISSR نشان داد که ۲۶ درصد تنوع محاسبه شده به تنوع بین گروهی (Among pops) و ۷۴ درصد به تنوع درون گروهی (Within pops) مربوط می‌شود (جدول ۴). در تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های ISSR توده‌های فلفل مورد مطالعه در ۳ گروه اصلی قرار گرفتند (شکل ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: امتیازدهی نشانگرهای ISSR به صورت بارز با کد یک و صفر به ترتیب برای وجود و عدم وجود قطعه موردنظر انجام گرفت. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس داده‌های مولکولی با روش Complete در نرم‌افزار NTSYSpc version 2.0، تجزیه واریانس مولکولی (Analysis of molecular variance (AMOVA)) و برآورد میزان تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌ها در نرم‌افزار GenAlex6.41 (۲۸) و محاسبه تعداد و درصد مکان‌های چندشکل در نرم‌افزار PopGene32 انجام گرفت. میزان اطلاعات چندشکلی (Polymorphic information content (PIC)) برای هر آغازگر در ژرم پلاسما مورد مطالعه با استفاده از رابطه $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$ محاسبه شد. در این فرمول P فراوانی i امین آلل و n تعداد آلل در مکان‌های ژنی می‌باشد. ساختار ژنتیکی جمعیت و دسته‌بندی دقیق افراد به زیرجمعیت‌های مناسب و تشخیص ژنوتیپ‌های مختلط مبتنی بر مدل بی‌زین در نرم‌افزار Structure 2.3.4 (۲۹) انجام گرفت. بین ۱ تا ۱۰ زیرجمعیت فرضی (K) در نظر گرفته شد و برای افزایش دقت، ۵ تکرار برای هریک از زیرجمعیت‌های فرضی لحاظ گردید. منحنی حداکثر درست‌نمایی با بکارگیری مدل ترکیبی Admixture و استقلال فراوانی آلل‌ها با تعداد دوره گرم کردن (Burn-in) ۱۰۰۰۰۰ و تعداد تکرار MCMC (Markov Chain Monte



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای توده های فلفل براساس داده‌های مولکولی ISSR به روش Complete در نرم‌افزار NTSYS.

جدول ۳- محتوای اطلاعات چندشکل و درصد پلی مورفیسم آغازگرهای ISSR استفاده شده در مطالعه تنوع ژنتیکی توده های فلفل.

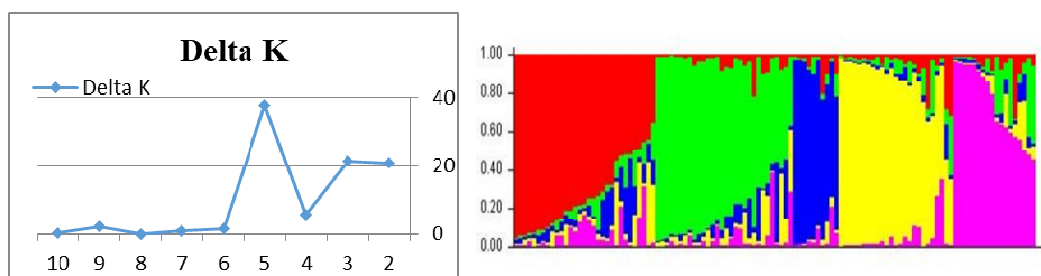
اسامی پرایمر	توالی پرایمر	PIC	باندهای مونومرفیک	باندهای پلی مورفیک
UBC809	(AG) ₈ G	۰/۴۱۶	۲	۷
UBC811	(GA) ₈ C	۰/۴۵۰	۴	۴
UBC812	(GA) ₈ A	۰/۳۸۲	۳	۵
UBC817	(CA) ₈ A	۰/۴۳۴	۲	۶
UBC823	(TC) ₈ C	۰/۳۹۹	۲	۷
UBC825	(AC) ₈ T	۰/۳۳۸	۳	۶
UBC826	(AC) ₈ C	۰/۳۸۲	۲	۷
UBC827	(AC) ₈ G	۰/۳۶۳	۲	۷
UBC834	(AG) ₈ CTT	۰/۳۴۱	۴	۶
UBC842	(GA) ₈ CTT	۰/۴۴۶	۱	۲
UBC856	(AC) ₈ CTA	۰/۳۸۷	۱۰	۱
کل			۳۵	۵۸
میانگین		۰/۳۹۴	۳/۱۸	۵/۲۷
انحراف معیار		۰/۰۴	۲/۴۴	۲/۱۰

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از نشانگرهای ISSR در جمعیت‌های فلفل

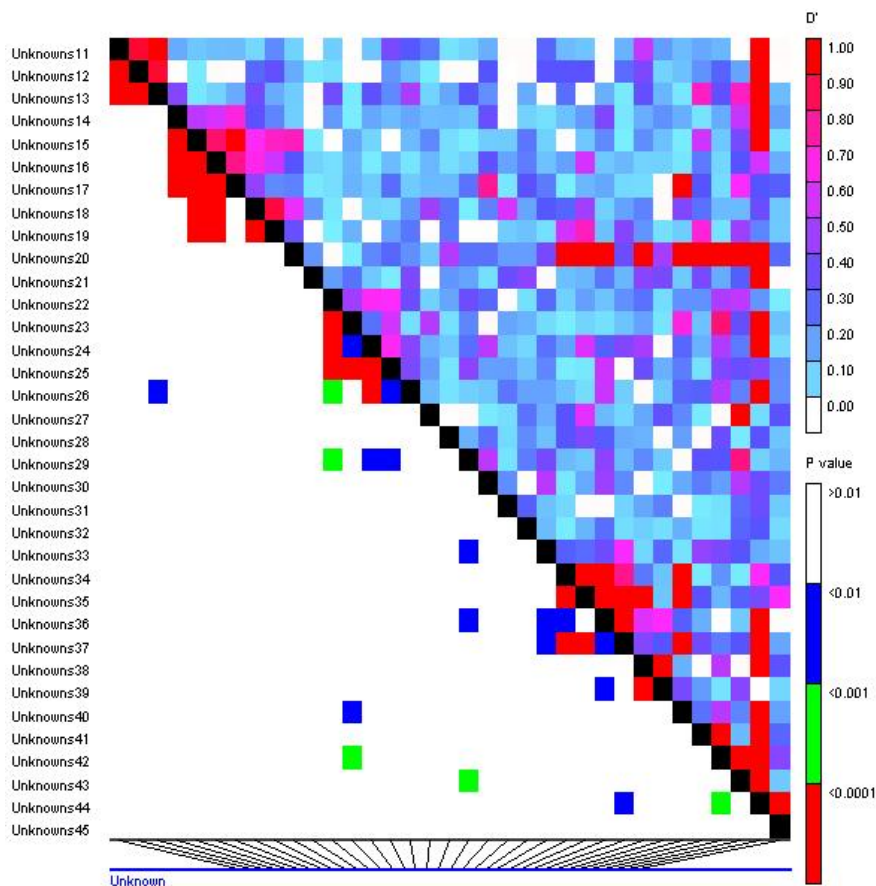
منابع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	درصد
بین جمعیت‌ها	۲۹	۶۷۲/۶۰۵	۲۳/۱۹۳	۳/۵۰۹	٪۲۶
درون جمعیت‌ها	۸۴	۸۳۰/۸۳۳	۹/۸۹۱	۹/۸۹۱	٪۷۴
کل	۱۱۳	۱۵۰۳/۴۳۹		۱۳/۴۰۰	٪۱۰۰

تصمیم‌گیری ۷۰ درصد، از ۱۱۴ ژنوتیپ مورد بررسی، ۶۸/۴۲ درصد افراد مورد مطالعه (۷۸ فرد) بدون اختلاط و ۳۱/۵۷ درصد افراد (۳۶ فرد) دارای ساختار مختلط می‌باشند. از ۱۶۵۳ جفت نشانگر ISSR $[(58 \times 57) / 2 = 1635]$ ، ۷/۰۴ درصد به طور معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در عدم تعادل پیوستگی (LD) بودند (شکل ۳).

تجزیه مؤثر ساختار جمعیت و گروه‌بندی دقیق افراد به زیرجمعیت‌ها با استفاده از نشانگرهای تکثیر شده با ۱۱ آغازگر ISSR در نرم‌افزار Structure انجام شد. باتوجه به این که حداکثر مقدار ΔK در $K=5$ بدست آمد، به احتمال قوی ژنوتیپ‌های فلفل مورد بررسی دارای ۵ زیر جمعیت می‌باشند (شکل ۲). براساس بارپلات حاصل و با آستانه



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های فلفل بر اساس داده‌های نشانگرهای ISSR مبتنی بر مدل Bayesian (شکل سمت راست) در نرم‌افزار Structure. نمودار دو سویه برای تعیین تعداد مناسب زیر جمعیت (شکل سمت چپ) بر اساس داده‌های نشانگرهای ISSR در نرم‌افزار Structure ($K=5$).



شکل ۳- پلات عدم تعادل پیوستگی (LD plot) بین جفت نشانگرهای ISSR در توده‌های فلفل مورد مطالعه. قسمت بالای قطر نشان‌دهنده میزان عدم تعادل پیوستگی با استفاده از آماره D' و قسمت پایین قطر، نشان‌دهنده سطوح معنی‌داری بین هر جفت نشانگرهای ISSR است.

با وزن کل میوه، ۴ مکان ژنی با طول میوه، ۴ مکان ژنی با قطر میوه، ۳ مکان ژنی با دور میوه، ۲ مکان ژنی با وزن گوشت و ۴ مکان ژنی با وزن بذر کل پیوسته می‌باشند (جدول ۵). دامنه ضرایب تبیین فنوتیپی (R^2) بین ۳/۳ تا ۱۵/۲ متغیر بود.

در تجزیه ارتباطی، نشانگرهای تکثیر شده با ۸ آغازگر ISSR مختلف با ۱۳ صفت مورد بررسی پیوستگی نشان دادند که از این تعداد ۲ مکان ژنی با تعداد شاخه، ۲ مکان ژنی با عرض برگ، ۲ مکان ژنی با طول دمبرگ، ۲ مکان ژنی با ارتفاع بوته، ۳ مکان ژنی با دور بوته، ۴ مکان ژنی با تعداد میوه، ۱ مکان ژنی با وزن تک میوه، ۷ مکان ژنی

جدول ۵- شناسایی نشانگرهای ISSR پیوسته با صفات مورد مطالعه در فلفل براساس مدل MLM در نرم‌افزار TASSEL.

صفت	نشانگر	F-marker	P-value	R^2	صفت	نشانگر	F-marker	P-value	R^2
NB	UBC826	۹/۲۶۱۰۹	۰/۰۰۲۹	۰/۰۶۵۰		۸۳۴UBC	۴/۹۲۶۰	۰/۰۲۸۷	۰/۰۴۶۴۹
	UBC842	۴/۶۹۷۷	۰/۰۳۲۶	۰/۰۳۳۶۴		UBC812	۴/۵۲۸۸	۰/۰۳۶۰	۰/۰۴۴۰
LW	UBC825	۴/۷۴۷۹	۰/۰۳۱۵	۰/۰۴۱۹		UBC825	۴/۴۶۵۴	۰/۰۳۷۱	۰/۰۴۱۳۱
	UBC826	۴/۵۲۹۳	۰/۰۳۵۷	۰/۰۴۰۸	FL	UBC825	۴/۰۹۸۶	۰/۰۴۵۶	۰/۰۳۸۹۰
PL	UBC826	۴/۱۱۳۴	۰/۰۴۵۲	۰/۰۳۸۳		UBC834	۶/۳۶۰۵	۰/۰۱۳۲	۰/۰۶۱۱
	UBC834	۴/۸۷۸۲	۰/۰۲۹۳	۰/۰۴۳۹		UBC834	۴/۴۸۷۳	۰/۰۳۶۶	۰/۰۴۳۱
PH	UBC817	۶/۷۳۰۲	۰/۰۱۰۸	۰/۰۵۶۶		UBC812	۴/۷۰۳۸	۰/۰۳۳۶	۰/۰۴۸۰
	UBC825	۶/۵۴۰۱	۰/۰۱۱۹	۰/۰۵۴۷	RF	UBC812	۱۵/۳۵۲	۰/۰۰۰۱	۰/۱۵۲۴
RS	UBC826	۵/۰۲۲۰	۰/۰۲۷۲	۰/۰۴۳۰		UBC834	۴/۴۵۰۳	۰/۰۳۷	۰/۰۴۱۱
	UBC825	۴/۰۹۳۵	۰/۰۴۵۵	۰/۰۳۷۳		UBC817	۴/۲۴۹۸۱	۰/۰۴۱۹	۰/۰۳۹۹
	UBC812	۷/۰۷۱۶۲	۰/۰۰۹۱	۰/۰۶۱۷		UBC834	۵/۵۷۷۲	۰/۰۲۰۱	۰/۰۵۱۵۴
NF	UBC826	۴/۸۸۶۰	۰/۰۲۹۵	۰/۰۴۹۱	FC	UBC825	۵/۲۴۶۷	۰/۰۲۴۱	۰/۰۴۹۹
	UBC834	۶/۸۲۲۶	۰/۰۱۰۴	۰/۰۶۵۹		UBC834	۵/۵۴۵۵	۰/۰۲۰۵	۰/۰۵۵۰
	UBC842	۳/۹۸۶۹	۰/۰۴۸۸	۰/۰۴۰۸		UBC812	۸/۵۳۷۷	۰/۰۰۴۳	۰/۰۸۸۶
	UBC812	۸/۲۲۸۲	۰/۰۰۵۱	۰/۰۸۴۱	PW	UBC834	۵/۲۰۰۷	۰/۰۲۴۷	۰/۰۵۱۶
SFW	UBC834	۵/۲۱۸۸	۰/۰۲۴	۰/۰۴۹		UBC817	۵/۵۰۹۶	۰/۰۲۰	۰/۰۵۴۲
TFW	UBC826	۴/۸۴۴۳	۰/۰۳۰۲	۰/۰۴۶۹	TSW	UBC826	۴/۲۰۸۹	۰/۰۴۳۰	۰/۰۴۴۱
	UBC817	۴/۷۶۷۵	۰/۰۳۱۴	۰/۰۴۴۳		UBC834	۴/۱۰۸۹	۰/۰۴۵۳	۰/۰۴۰۱
	UBC825	۶/۱۱۷۴	۰/۰۱۵	۰/۰۵۶۵		UBC826	۴/۵۰۹۰	۰/۰۳۶۳	۰/۰۴۷۳
	UBC827	۵/۵۸۷۱۴	۰/۰۲۰۲	۰/۰۶۰۳		UBC812	۷/۱۱۰۹	۰/۰۰۹۰	۰/۰۷۲۵

MLM: mixed liner model; R^2 : coefficient of determination; P-value: probability value.

بحث و نتیجه گیری

تنوع ژنتیکی فلفل: در مطالعات مختلفی از شاخص PIC و تجزیه واریانس مولکولی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی استفاده شده است (۱، ۴ و ۵). محاسبه PIC مبتنی بر تعداد نشانگر-های شناسایی شده در جمعیت مورد مطالعه بوده، مقادیر بالای PIC اشاره بر چندشکلی بالا در جایگاه‌های نشانگرها و کارایی بالای آن‌ها در تمایز افراد جمعیت دارد (۲). در

این مطالعه متوسط PIC آغازگرهای مورد استفاده برابر ۰/۳۹ با انحراف معیار ۰/۰۴ بود. مقدار PIC ۵ نشانگر از ۱۱ نشانگر مورد استفاده بیشتر از متوسط بود. بنابراین در حدود نصف آغازگرهای مورد مطالعه قدرت تمایز بالاتری داشته که در تفکیک و تمایز افراد مهم است. در مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های فلفل قرمز بلغارستان با نشانگرهای SSR، محتوای اطلاعات چندشکل نشانگرها بین ۰/۰۶۱ تا ۰/۶۳۹ با میانگین ۰/۳۴۹ گزارش شد (۳۱).

وقوع نوترکیبی اجدادی (Ancestral recombination) که در جمعیت اتفاق می‌افتد تمام آلل‌های موجود در جمعیت را در شناسایی ارتباط معنی‌دار صفت- نشانگر در نظر می‌گیرد (۱۵). در مطالعه‌ی (۲۵) بر روی ارقام فلفل با نشانگرهای SSR، طیف وسیعی از عدم تعادل پیوستگی بین مکان‌ها در طول ژنوم شناسایی گردید که استفاده از تجزیه ارتباطی برای شناسایی نشانگرهای مرتبط را امکان‌پذیر می‌نماید.

در اصلاح نبات مبتنی بر گزینش به کمک نشانگر، تنها همبستگی غیرتصادفی آلل‌ها که ناشی از پیوستگی فیزیکی مکان‌های ژنی است ارزش کاربردی داشته و عوامل دیگر از قبیل وجود ساختار در جمعیت و خویشاوندی نسبی افراد هرچند ممکن است باعث ایجاد همبستگی غیرتصادفی آلل‌ها یا LD شوند ولی از دید اصلاحی ارزشی ندارد و حتی وجود چنین عواملی منجر به سطح بالایی از نتایج مثبت دروغین در تجزیه ارتباطی می‌شوند (۳۶) و در نتیجه قابلیت اعتماد به نتایج بدست آمده کاهش می‌یابد. منظور از نتایج مثبت دروغین، نشانگرهای غیرپیوسته‌ای است که به اشتباه به عنوان نشانگر پیوسته با ژن‌های کنترل صفات شناسایی می‌شوند؛ به عبارت دیگر پیوستگی کاذب نشانگر با ژن کنترل کننده صفت است. لذا لازم است اثر چنین عواملی کنترل شوند. مدل مخلوط با در نظر گرفتن ماتریس ساختار جمعیت (Q) و ماتریس خویشاوندی نسبی (K) به عنوان کواریت در پروسه تجزیه ارتباطی یک سیستم قوی و قابل اعتماد جهت شناسایی QTL یا نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل کننده صفات فراهم می‌نماید (۳۵ و ۳۸).

در بررسی حاضر، نشانگرهای مولکولی مختلفی برای صفات مورد شناسایی شد. تعدادی از نشانگرهای شناسایی شده برای برخی صفات مشترک بود که عمدتاً نتیجه اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات است (۱۸). نشانگرهای تکثیر شده با آغازگر UBC834

براساس تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) در توده‌های فلفل با نشانگرهای ISSR، میزان تنوع در درون توده‌ها بسیار بیشتر از بین توده‌ها بود. تنوع کم بین توده‌های فلفل حاکی از جریان ژنی کم در بین جمعیت‌ها و همچنین وجود روش‌گزینشی متفاوت در هر جمعیت می‌باشد. در مطالعه‌ی (۲۵) بر روی فلفل (*Capsicum annuum* L.)، میزان تنوع در درون توده‌ها ۸۴/۷۴ درصد و بین توده‌ها ۱۵/۲۶ درصد گزارش گردید.

ارزیابی ساختار ژنتیکی فلفل: در گروه بندی براساس روش سلسله مراتبی Complete و مبتنی بر مدل بیزین، افراد مورد مطالعه به ترتیب در ۳ و ۵ گروه ژنتیکی قرار گرفتند که حاکی از وجود زیر ساختار در جمعیت فلفل مورد مطالعه می‌باشد که بایستی در تجزیه ارتباطی در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ی (۱۰) بر روی فلفل با نشانگرهای AFLP، توده‌ها در دو خوشه اصلی قرار گرفتند. در مطالعه‌ی دیگر (۳۷) بر روی توده‌های فلفل چین، افراد جمعیت مورد مطالعه در نرم‌افزار Structure به سه گروه ژنتیکی تفکیک شدند. در مطالعه‌ی (۲۵) بر روی ارقام فلفل با نشانگرهای SSR، ۵ زیر جمعیت ($K=5$) با نرم‌افزار Structure شناسایی شد.

تجزیه ارتباطی: پایه و اساس تجزیه ارتباطی عدم تعادل پیوستگی (LD) Linkage disequilibrium می‌باشد که نشان‌دهنده همبستگی غیرتصادفی آلل‌ها در مکان‌های ژنتیکی مختلف بر روی یک تک کروموزوم (گروه پیوستگی) یا کروموزوم‌های مختلف می‌باشد (۷ و ۲۱). گستره LD در گیاهان از صدها جفت باز تا صدها جفت کیلوباز بسته به گونه و نوع جمعیت مورد بررسی دیده شده است (۲۲ و ۲۶). چندین عامل نقش مهمی در ایجاد بلوک‌های هاپلوتایپ LD در ژنوم دارند (۲۷ و ۳۲) که از آن‌ها می‌توان به نوترکیبی، انتخاب، جهش و مهاجرت اشاره کرد (۱۴). از میان عوامل، جهش و نوترکیبی عوامل کلیدی تأثیرگذار بر LD هستند. نقشه‌یابی LD به واسطه

Qst (ماتریس ساختار جمعیت) و K (ماتریس خویشاوندی افراد) در مدل MLM به عنوان کواریت، نشانگرهای تکثیر شده با ۸ آغازگر ISSR با ۱۳ صفت مورد بررسی پیوستگی نشان دادند. این مطالعه پتانسیل نشانگر مولکولی ISSR در تجزیه ارتباطی صفات کمی در توده‌های فلفل را نشان می‌دهد. چندین نشانگر مولکولی به طور قابل توجهی با بیش از یک صفت فنوتیپی ارتباط داشتند، که بیانگر حضور احتمالی اثرات پلیوتروپیک یا پیوستگی مکان‌های کنترل-کننده صفات می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه در صورت تأیید و تبدیل نشانگرهای شناسایی شده به نشانگرهای هم بارز SCAR می‌تواند در گزینش به کمک نشانگر برای صفات پیچیده در *C. annuum* مفید باشند. همچنین نشانگرهای با پیوستگی قوی می‌تواند برای اشیاع نمودن نقشه‌های پیوستگی استفاده شوند.

سپاسگزاری

از دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و همچنین پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام پژوهش و همچنین از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه به خاطر تامین منابع مالی پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

بیشترین تعداد پیوستگی را با صفات مورد بررسی نشان داد. نشانگرهای مشترک در صورت تأیید با آزمایش‌های تکمیلی، می‌تواند به نشانگرهای اختصاصی (SCAR) (Sequence-characterized amplified region) تبدیل و برای غربال جمعیت‌ها و انتخاب به کمک نشانگر (MAS) مورد استفاده قرار گیرند. در مطالعه‌ی (۲۵) بر روی ارقام فلفل با نشانگرهای SSR در تجزیه ارتباطی، ۸ نشانگر از هفت کروموزوم مختلف به طور معنی‌داری با وزن میوه ارتباط داشتند و در کل ۱۵ درصد از تغییرات صفت را توجیه می‌نمودند. در مطالعه‌ی (۳)، از نشانگرهای ISSR برای تجزیه ارتباط در یونجه استفاده شد و نشانگر ISSR14-4 با ۸ صفت مختلف پیوسته بود. در سایر محصولات مانند ذرت (۸)، گندم (۲۰)، جو (۳۳) و توتون (۶) نیز از نشانگرهای ISSR برای تجزیه QTL استفاده شده است.

در پژوهش حاضر کمترین محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برای آغازگر UBC825 با ۳۳/۸ درصد و بیشترین میزان برای آغازگر UBC811 با ۴۵ درصد مشاهده شد. در ارزیابی ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های فلفل با نشانگرهای ISSR در نرم‌افزار Structure، افراد در ۵ زیر جمعیت قرار گرفتند. در تجزیه ارتباط بین داده‌های مولکولی و صفات فنوتیپی مورد مطالعه با لحاظ کردن ماتریس‌های

منابع

- ۱- حاجی رضایی، م.، باقی زاده، ا.، جوادی، غ.، و صادقی زاده، م.، ۱۳۸۸. ارزیابی تنوع ژنتیکی تعدادی از ارقام پسته استان کرمان بر اساس نشانگر مولکولی RAPD. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۲، صفحات ۴۶۲-۴۶۹.
- ۲- شازده‌احمدی، م.، و خرازی، م. ۱۳۹۴. استفاده از نشانگر مولکولی ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون، پژوهش‌های ژنتیک گیاهی، ۲، صفحات ۳۳-۴۶.
- ۳- عبدالهی مندولکانی، ب.، عزیزی، ح.، پیری، ی.، رحمانپور، س.، و حسینی، ل. ۱۳۹۵. تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک در یونجه زراعی با استفاده از نشانگرهای مولکولی، پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۹، صفحات ۵۲-۶۰.
- ۴- صالحی شانجانی، پ.، جعفری، ع.، ا.، کلاگری، م.، و محمد اسماعیلی، م.، ۱۳۹۳. بررسی تنوع ژنتیکی و رابطه جغرافیایی میان ۱۸ جمعیت وحشی *Agropyron desertorum* توسط پروتئین‌های کل، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷، صفحات ۴۴۳-۴۵۵.
- ۵- نوریان، ع.م.، شیروانی، ه. ۱۳۹۸. بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های پنیرک (*Malva neglecta*) با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران). دوره ۳۲، شماره ۴.
- ۶- هوشیاردل، ف.، درویش زاده، ر.، بصیرنیا، ا.، و حاتمی ملکی، ح.، ۱۳۹۵. نقشه یابی ارتباطی صفات زراعی در توتون‌های شرقی

- زراعی، ۱۸، صفحات ۱۳۴-۱۴۳.
- 7- Abdurakhmonov, I. Y., and Abdulkarimov, A., 2008. Application of Association Mapping to Understanding the Genetic Diversity of Plant Germplasm Resources, *International Journal of Plant Genomics*, 574927, 18 p.
 - 8- Andersen, J. R., Zein, I., Wenzel, G., Krützfeldt, B., Eder, J., Ouzunova, M., and Lübberstedt, T., 2007. High levels of linkage disequilibrium and associations with forage quality at a phenylalanine ammonia-lyase locus in European maize (*Zea mays* L.) inbreds. *Theoretical and Applied Genetics*, 114 (2), PP: 307-319.
 - 9- Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y. and Buckler, E. S., 2007. TASSEL, software for association mapping of complex traits in diverse samples, *Bioinformatics*, 23, 2633-2635.
 - 10- Cavagna, P., Camerini, G., Fibiani, M., Andreani, L., Cella, R., Concia, L., and Lo Scalzo, R., 2012. Characterization of the rescued 'Voghera' sweet pepper landrace grown in northern Italy, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 10(4), PP: 1059-1069.
 - 11- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., and Pang, E. C. K., 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, 142(1-2), PP: 169-196.
 - 12- Ersoz, E. S., Yu, J., and Buckler, E. S., 2007. Applications of linkage disequilibrium and association mapping in crop plants, *Genomics-assisted crop improvement*. Springer, Dordrecht, PP: 97-120.
 - 13- Eshbaugh, W. H., 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae), *Phytologia*, 47, PP: 153-165.
 - 14- Flint-Garcia, S. S., Thornsberry, J. M., and Buckler, E. S. I., 2003. Structure of linkage disequilibrium, *Annual Review of Plant Biology*, 54, PP: 357-374.
 - 15- George, A. W., and Cavanagh, C., 2015. Genome-wide association mapping in plants, *Theoretical and Applied Genetics*, 128, 1163-1174.
 - 16- Hammer, K., Arrowsmith, N., and Gladis, T., 2003. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources, *Naturwissenschaften*, 90, 241-250, In: Ruane, J., Sonnino, A., (Eds.), *The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources*, Rome: FAO, PP: 55-66.
 - 17- Hanif U., Alipour H., Gul A., Jing L., Darvishzadeh R., Amir R., Munir F., Siddiqui S., Ghafoor A., Ilyas M., Bernando A., Amand P.St., Bai G, Sonder K., He Z., Rasheed A. & Li H. (2021). Characterization of the genetic basis of local adaptation of wheat landraces from Iran and Pakistan using GWAS. *The Plant Genome*. DOI: 10.1002/tpg2.20096.
 - 18- Jun, T. H., Van, K., Kim, M. Y., Lee, S. H., and Walker, D. R., 2008. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. *Euphytica*, 62, 179-191.
 - 19- Lanteri, S., and Barcaccia, G., 2006. Molecular marker-based analysis for crop germplasm preservation. In: Ruane, J., Sonnino, A. (Ed.), *The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources*, Rome: FAO, PP: 55-66.
 - 20- Liu, L., Wang, L., Yao, J., Zheng, Y., and Zhao, C., 2010. Association mapping of six agronomic traits on chromosome 4a of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Molecular Plant Breeding*, 1(5), PP: 1-10.
 - 21- Mackay, I., and Powell, W., 2007. Methods for linkage disequilibrium mapping in crops, *Trends in Plant Science*, 12(2), PP: 57-63.
 - 22- Mather, K. A., Caicedo, A. L., Polato, N. R., Olsen, K. M., McCouch, S. & Purugganan M. D. (2007). The extent of linkage disequilibrium in rice (*Oryza sativa* L.), *Genetics*, 177, 2223-2232.
 - 23- Mathew, D., 2006. Molecular markers in improvement of *Capsicum* spp, a review, *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 15, PP: 1-13.
 - 24- Moose, S. P., and Mumm, R. H., 2008. Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiology*, 147, PP: 969-977.
 - 25- Nimmakayala, P., Abburi, V. L., Abburi, L., Alaparathi, S. B., Cantrell, R., Hankins, G., Malkaram, S., and Reddy, U. K., 2014. Linkage disequilibrium and population-structure analysis among *Capsicum annum* L. cultivars for use in association mapping. *Molecular Genetics and Genomics*, 289, PP: 513-521.
 - 26- Nordborg, M., Borevitz, J. O., Bergelson, J., Berry, C. C., Chory, J., Hagen-blad, J., Kreitman, M., Maloof, J. N., Noyes, T., Oefner, P. J., Stahl, E. A., and Weigel, D., 2002. The extent of linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*, *Nature Genetics*, 30, PP: 190-193.
 - 27- Oraguzie, N. C., Wilcox, P. L., Rikkerink, E. H. A., and de Silva, H. N., 2007. *Linkage disequilibrium, association mapping in plants*. Springer, PP: 11-39.
 - 28- Peakall, R., and Smouse, P. E., 2006. GenA1Ex 6: Genetic Analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research, *Molecular Ecology Notes*, 6, PP: 288-295.

- 29- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155, PP: 945–959.
- 30- Ross-Ibarra, J., Morrell, P. L., and Gaut, B. S., 2007. Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (supplement 1), PP: 8641–8648.
- 31- Se-Jong, O. H., Song Jae, Y., Jeongran, L., Gi-An, L., Ho-Cheol, K., Stoilova, T., Krasteva, L., Yeon-Gyu, K., Ju-Hee, R., Jae-Gyun, G., Na-Young, R., On-Sook, H., and Myung-Chul, L., 2012. Evaluation of Genetic Diversity of Red Pepper Landraces (*Capsicum annuum* L.) from Bulgaria Using SSR Markers. *The Journal of the Korean Society of International Agriculture*, 24(5), PP: 547-556.
- 32- Stich, B., Melchinger, A. E., Frisch, M., Maurer, H. P., Heckenberger, M., and Reif, J. C., 2005. Linkage disequilibrium in European elite maize germplasm investigated with SSRs, *Theoretical and Applied Genetics*, 111(4), PP: 723–730.
- 33- Wang, M., Jiang, N., Jia, T., Leach, L., Cockram, J., Comadran, J., Shaw, P., Waugh, R., and Luo, Z., 2012. Genome-wide association mapping of agronomic and morphologic traits in highly structured populations of barley cultivars, *Theoretical and Applied Genetics*, 124(2), PP: 233–246.
- 34- Xiao, Y., Cai, D., Yang, W., Ye, W., Younas, M., Wu, J., and Liu, K., 2012. Genetic structure and linkage disequilibrium pattern of a rapeseed (*Brassica napus* L.) association mapping panel revealed by microsatellites, *Theoretical and Applied Genetics*, 125, PP: 437–447.
- 35- Yu, J., and Buckler, E. S., 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize, *Current Opinion in Biotechnology*, 17(2), PP:155-160.
- 36- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Bi, I. V., Yamasaki, M., Doebley, J. F., McMullen, M. D., Gaut, B. S., Nielsen, D. M., and Holland, J. B., 2006. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness, *Nature Genetics*, 38, PP: 203–208.
- 37- Xiao-Min, Z., Zheng-Hai, Z., Xiao-Zhen, G., Sheng-Li, M., Xi-Xiang, L., Chadoeuf, J., Palloix, A., Li-Hao, W., and Bao-Xi, Z., 2016. Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution, *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), PP: 1991-2001.
- 38- Zhao, K., Aranzana, M. J., Kim, S., Lister, C., Shindo, C., Tang, C., Toomajian, C., Zheng, H., Dean, C., Marjoram, P., and Nordborg, M., 2007. An Arabidopsis example of association mapping in structured samples. *PLoS Genetics*, 3(1), e4 p.
- 39- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., and Labuda, D., 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), PP: 176-183.

Assessment of genetic diversity and association analysis for agro-morphological traits in pepper (*Capsicum* spp.) using ISSR markers

Salehian M.,¹ Darvishzadeh R.^{2,3} and Rezazad Bari M.⁴

¹ Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

² Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

³ Dept. of Agricultural Biotechnology, Institute of Biotechnology, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

⁴ Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

Abstract

Study of genetic diversity using genetic markers is necessary to effective conservation of germplasm and to understand its genetic structure. Genetic variability in a species facilitate its adaptation to various environmental conditions. In the present study, genetic variability among 114 genotypes from 30 Pepper accessions were studied using 11 ISSR primers and 14 morphological traits. Of 1653 locus pairs of ISSR markers, 7.04% showed significant level ($P \leq 0.01$) of linkage disequilibrium (LD). By analyzing genetic structure of population based on molecular data and using Bayesian model, 5 subpopulations ($K=5$) were identified. Association analysis was conducted using mixed linear model by considering kinship and genetic structure matrices as covariates in the model. Some molecular markers multiplied by 8 ISSR primers were identified to be significantly associate with 13 studied traits ($P \leq 0.05$). Some markers were common among some studied traits that can be due to pleiotropy or linkage between loci controlling traits. Among studied ISSR primers, molecular markers produced by UBC834 primer showed the most association with the studied traits. Identified markers after validation can be useful in the development of pepper cultivars.

Key words: Genetic diversity, Linkage Disequilibrium, Molecular markers, Pepper, QTL identification.